

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 7 月 19 日 (19.07.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/51065 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 33/10, 9/08, A61P 27/02

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/00081

(22) 国際出願日: 2000 年 1 月 11 日 (11.01.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社
オフテクス (OPHTECS CORPORATION) [JP/JP]; 〒
550-0002 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目9番1号 Osaka
(JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 米田豊秋
(YONEDA, Toyooki) [JP/JP]; 〒550-0002 大阪府大阪
市西区江戸堀1丁目9番1号 株式会社 オフテクス内
Osaka (JP). 中山能雄 (NAKAYAMA, Yoshio) [JP/JP]. 見

市博明 (MIICHI, Hiroaki) [JP/JP]. 斉藤文郎 (SAITO,
Fumio) [JP/JP]. 中村 滋 (NAKAMURA, Shigeru)
[JP/JP]; 〒668-0831 兵庫県豊岡市神美台156-5番地 株
式会社 オフテクス 研究所内 Hyogo (JP).

(74) 代理人: 弁理士 大島正孝 (OHSHIMA, Masataka); 〒
160-0004 東京都新宿区四谷四丁目3番地 福屋ビル 大
島特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CA, CN, KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PERFUSION LIQUID PREPARATIONS FOR OPHTHALMIC OPERATIONS

(54) 発明の名称: 眼手術用灌流液製剤

(57) Abstract: One-pack type perfusion liquid preparations which are excellent in the effect of protecting eye tissues and corneal endothelial cells during and after cataract operation, intraocular lens transplantation, glaucoma operation, vitreous body operation and penetrating keratoplasty, and have a high biological safety. These preparations comprise an aqueous solution containing at least one compound selected from among D-3-hydroxybutyric acid and salts thereof, a hydrogencarbonate and calcium glyccrophosphate and remain stable as a preparation even under severe temperature conditions.

(57) 要約:

白内障手術、眼内レンズ移植手術、緑内障手術、硝子体手術および全層角膜手術において術中・術後の眼組織および角膜内皮細胞の保護に優れ且つ生体安全性の高い一液型の眼手術用灌流液製剤。この製剤は、D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩から選ばれる少なくとも1種の化合物、重炭酸塩およびグリセロリン酸カルシウムを含有する水溶液からなり、温度的に苛酷な条件下でも製剤的に安定である。

WO 01/51065 A1

25

明 細 書

眼手術用灌流液製剤

5 技術分野

本発明は、生体安全性および製剤安定性に優れた一液型の眼手術用灌流液製剤に関する。さらに詳しくは、白内障手術、眼内レンズ移植手術、緑内障手術、硝子体手術および全層角膜手術などを安全且つ有効に実施するために、眼内組織の保護、眼内の手術残留物の吸引除去および角膜上皮並びに結膜の乾燥防止に好適な一液型の眼手術用灌流液製剤に関する。

背景技術

近年、白内障、眼内レンズ移植手術および緑内障手術などの眼科手術様式の開発は、目覚ましい進歩を遂げている。上記手術を安全且つ有効に実施するためには、手術用補助剤として用いられる灌流液が重要な役割を果たす。例えば白内障手術時においては、手術開始時に角膜周辺部をメスを用いて切開する際に前房から房水が流出するので、眼内組織および細胞の保護とともに前房空間の維持のために、灌流液や粘弾性物質の注入が不可欠となる。さらに混濁した水晶体の破碎や摘出時には灌流液が眼内に存在することで、破碎物の吸引除去を円滑に実施することが出来る。また手術中における角膜表面の乾燥防止のために灌流液を使用することもある。

この様な灌流液の使用目的を達成するための製剤化における留意点としては、1) 浸透圧およびpHを眼内組織および角膜内皮細胞に対して生理学的に調和させること、2) 無機塩、エネルギー源などの房水成分を添加すること、3) 生物学的に安全であること、4) 製剤として室温で長期間保存できること、などが挙げられる。

現在、上市されている眼手術用灌流液製剤には、有効成分としてオキシグルタチオンが配合された商品、および重炭酸イオンを基本とした緩衝系をもつ商品が

存在する。しかしながら、これらは用時混合しなければならない二液性の製剤であったり、角膜内皮の保護に有効な成分を含まないなどにより、製剤的な安定性、使用時の簡便性および有効性の面からも解決すべき問題点を少なからず含んでいる。

- 5 また、エネルギー源として3-ヒドロキシ酪酸を主成分として含有する眼手術用灌流液製剤は、米国特許第5, 116, 868号および米国特許第5, 298, 487号の明細書に開示されている。しかしながら、該特許明細書には角膜内皮の機能を維持するのに必要である重炭酸イオンが配合されていない。同明細書には、その理由として、3-ヒドロキシ酪酸は代謝により CO_2 を発生し、この CO_2 が重炭酸イオンに変化するため重炭酸イオンは自動的に供給されること、また重炭酸イオンが製剤中に存在すると CO_2 分圧により製剤のpHが変動し不安定になることが挙げられている。すなわち重炭酸イオンは予め製剤に配合する必要が無いことが記載されている。

- 15 本発明において有効成分として用いられるD-3-ヒドロキシ酪酸またはその塩は、ヒトおよび他の殆どの哺乳類の生体成分として知られており、肝臓で脂肪酸が酸化される過程で生合成され、血液によって角膜をはじめとする肝外の末梢組織へ運ばれ、効率のよいエネルギー源として利用される（レーニンジャー新化学、第2版、p 625, 1993年参照およびNATURE, No. 4841, p 597, 1962年参照）。また、本物質は、角膜組織に対してグルコースより
20 りもエネルギー産生基質として極めて有効であることが知られている（TRANSPANTATION, 57, p 1778~p 1785, 1994年参照）。D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩の医薬品への適用としては、生体蛋白異化作用亢進状態や身体に侵襲の加わった患者に対する栄養補給のための輸液配合成分としての報告がある（特開平2-191212号公報参照）。

- 25 特開平11-5737号公報には、D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物並びに重炭酸塩を含有することを特徴とする眼手術用灌流液製剤が開示されている。

発明の開示

本発明の目的は、白内障手術、眼内レンズ移植手術、緑内障手術、硝子体手術および全層角膜手術などの眼手術において術中・術後の眼組織および角膜内皮細胞の保護に優れ且つ生体安全性に優れた一液型の眼手術用灌流液製剤を提供する

5 ことにある。

本発明の他の目的は、上記の如き優れた特性に加えて、さらに温度的に苛酷な条件下でも安定な一液型の眼手術用灌流液製剤を提供することにある。

本発明のさらに他の目的および利点は以下の説明から明らかになろう。

本発明の上記目的および利点は、D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物、重炭酸塩並びにグリセロリン酸カルシウムを含有することを特徴とする一液型眼手術用灌流液製剤によって達成される。

図面の簡単な説明

15 図1は、3-ヒドロキシ酪酸（以下、3-HBAとすることがある）の光学異性体の角膜に対する保護作用の効果（*in vitro*実験）を示す。

図2は、グリセロリン酸イオンとリン酸イオンの角膜に対する保護作用の効果（*in vitro*実験）を示す。

20 図3は、グリセロリン酸カルシウムの角膜に対する保護作用の効果（*in vitro*実験）を示す。

図4は、重炭酸イオンの角膜に対する保護作用の効果（*in vitro*実験）を示す。

図5は、D-3-HBA・Naとグルコースの角膜に対する保護作用の効果（*in vitro*実験）を示す。

25 図6は、本発明の溶液と比較液との角膜厚に対する経時的变化量を示す。

図7は、本発明の溶液と比較液との網膜電図（以下、ERGと略記する）a波の経時的潜時を示す。

図8は、本発明の溶液と比較液とのERG b波の経時的潜時を示す。

発明の詳細な説明

以下、本発明の製剤について詳述する。

3-ヒドロキシ酪酸の化学構造式のC 3位の絶対立体配置に関しては、D体、
5 DL体、およびL体の一群がある。そのうち、本発明では、眼手術用灌流液製剤
の有効性を最大に発揮する上でD体が用いられる。これは、該製剤の有効性評価
方法の一つである角膜内皮細胞の賦活作用に関して光学異性体に基づく活性の差
を調べたところ、D体に活性が得られる一方でL体の活性は殆どなく、また、D
L体を利用した場合は、L体には活性が認められないためD体を使用した場合に
10 比較し活性が低くなるからである。

D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩は、アセト酢酸エステル類のケトン基が
ルテニウム-光学活性フォスフィン錯体を触媒として不斉水素化され、引き続き
エステルのアルカリ加水分解をすることにより容易に高不斉収率での合成が可能
であるため、比較的安価に該化合物を入手することが出来る（特公平6-993
15 67号公報参照）。

本発明におけるD-3-ヒドロキシ酪酸の塩としては、水溶性塩が好ましく、
例えばナトリウム塩、カリウム塩、バリウム塩、マグネシウム塩、リチウム塩、
L-リジン塩、L-ヒスチジン塩およびL-アルギニン塩を挙げることができる。

D-3-ヒドロキシ酪酸およびそれらの水溶性塩は単独であるいは2種以上組
20 み合わせて一緒に使用することができる。

本発明においてD-3-ヒドロキシ酪酸および/またはその塩の水溶液製剤で
の濃度は、好ましくは0.01mM以上200mM未満である。より好ましくは
1mM以上100mM未満であり、さらに好ましくは5mM以上40mM未満で
ある。

25 本発明においては重炭酸塩の配合により、角膜機能維持のための重要な指標の
一つである角膜膨潤抑制効果に著しい影響を与える。実際、家兎より摘出された
強角膜片を重炭酸塩の添加または無添加の製剤を用いて培養し角膜厚の変化を測
定したところ、重炭酸塩添加製剤は角膜の状態をほぼ通常状態に戻したのに対し、

重炭酸塩無添加製剤では角膜の膨潤が加速し、角膜保護に乏しいことが判っている。また、家兎眼を用いた *in vivo* 実験においても同様に、重炭酸塩添加製剤が角膜を通常状態に戻すのに対し、重炭酸塩無添加製剤では角膜の膨潤を加速した。

- 5 以上の事実から、D-3-ヒドロキシ酪酸配合の本発明製剤には、重炭酸塩（重炭酸イオン）の配合が必須となる。

重炭酸塩は、重炭酸ナトリウムまたは重炭酸カリウムであるのが好ましい。重炭酸塩の濃度は重炭酸イオン (HCO_3^-) として、好ましくは0.1 mM以上100 mM未満である。より好ましくは1 mM以上60 mM未満であり、さらに好ましくは10 mM以上60 mM未満である。

- 本発明では、灌流液の成分として必要な房水成分であるリン酸イオンおよびカルシウムイオンに代えて、温度的に苛酷な条件下での製剤安定性を向上させるためにグリセロリン酸カルシウムが用いられる。グリセロリン酸イオンは通常的环境下では水溶液中でリン酸イオンにまで解離することは殆どないが、充分にリン酸イオンと同等の作用を働くことが確認できている。また、水溶液中において温度的に苛酷な条件下では、リン酸イオンの場合にはリン酸イオンとカルシウムイオンとが反応して沈殿を生じる場合があるが、グリセロリン酸イオンの場合には、そのような沈殿が生じることはない。さらには、D-3-ヒドロキシ酪酸イオンとグリセロリン酸イオンとを共存させることで、より角膜機能維持を上昇させることが可能であることも明らかとなった。グリセロリン酸カルシウムの濃度は、好ましくは0.1 mM以上50 mM未満である。より好ましくは1 mM以上10 mM未満である。本発明においては、必然的に、カルシウムイオンもグリセロリン酸イオンと同濃度で含有される。

- 本発明の製剤は、好ましくは、他のエネルギー源としてグルコースを含有する。
- 25 本発明はD-3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩をエネルギー源として利用するが、D-3-ヒドロキシ酪酸および／またはその塩を単独で用いるよりもグルコースとの共存下で利用したほうが、角膜の賦活効果が上昇することが確認されている。グルコースの濃度は、好ましくは0.01 mM以上50 mM未満で

ある。より好ましくは0.1 mM以上20 mM未満である。

本発明では、好ましくはさらにクエン酸およびその塩（クエン酸イオン）を含有する。クエン酸イオンを配合する目的としては、pH調整および安定化剤としてである。クエン酸イオンはクエン酸として提供されるのが好ましいが、その他

5 クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウムのような形で提供されてもよい。本発明では重炭酸塩－クエン酸イオンの組合せで緩衝化剤としての役割も果たす。本発明においては、クエン酸を用いた場合には製剤調製の際にpHの最終の微調整を行う必要がないという利点もあるが、クエン酸塩の形で使用し、最終的なpHの微調整を行う行為に何ら問題はない。クエン酸イオンの濃度としては、0.01

10 mM以上50 mM未満、より好ましくは0.1 mM以上10 mM未満がよい。この範囲にクエン酸イオンを設定すると40℃、相対湿度75%の条件下で6ヵ月間にわたりpHの変動をみても殆ど変化が見られない。

本発明における灌流液製剤に用いる化合物としては、ヒトの房水に存在する無機塩類、浸透圧およびpHを眼内組織および角膜内皮細胞と調和させるための等

15 張化剤並びに緩衝化剤、および安定化剤等を適宜使用するのが望ましい。

本発明に用いられる無機塩類並びに等張化剤としては、上記カルシウム塩の他にマグネシウム塩、さらには例えば塩化ナトリウム、塩化カリウムなどのアルカリ金属塩の如き無機塩類並びにマンニトール、ソルビトール、キシリトールおよびデキストランなどの如き糖質の等張化剤が好ましく用いられる。マグネシウム

20 塩は、上記の如きD-3-ヒドロキシ酪酸イオン、重炭酸イオンとマグネシウムからなる塩として、あるいは塩化マグネシウム、硫酸マグネシウムのようなその他の水溶性の塩として添加される。マグネシウム塩の濃度は、好ましくは0.01 mM以上50 mM未満であり、より好ましくは0.1 mM以上20 mM未満、さらに好ましくは0.5 mM以上10 mM未満である。その他の上記無機塩類並びに等張化剤の濃度は、0.01 mM以上1,000 mM未満の範囲が好ましい。

25 また、製剤の浸透圧は270 mOsm. ~ 350 mOsm. の範囲に保持するのが望ましい。これらは、単独であるいは2種以上併用することができる。

本発明の水溶液製剤のpH範囲は、眼内組織および角膜内皮細胞に支障をきた

- さず、並びにそれらの機能を維持するのに必要な pH 6.8～pH 8.2 が好ましい。さらには pH 7.2～pH 8.0 の範囲がより好ましく、家兎眼を用いた有効性テストおよび安全性テストの結果より、これらの pH 範囲は眼手術用灌流液として許容できるものであることが明らかとなっている。この pH とするためには
- 5 上記の重炭酸塩－クエン酸イオンの緩衝化剤が好ましいが、その他として酢酸系緩衝化剤、硼酸系緩衝化剤、トリス（ヒドロキシ）アミノメタン－塩酸等の緩衝系を使用することも可能である。以下、実施例により本発明を詳述する。

実施例

10 実施例 1

- 溶液 No. 1～No. 7 は、表 1 に示す成分の所定量を蒸留水に溶解し、最後に D－3－ヒドロキシ酪酸ナトリウム（以下、D－3－HBA・Na と略記する）を溶解して全量を 1 L の水溶液とし、必要な場合には希塩酸にて pH を調整後、無菌濾過して被験灌流液とした。また比較液 2～5 も上記と同様にして調製し、
- 15 さらに比較例として用いた市販商品 B（比較液 1）の成分およびそれらの濃度を表 1 に併せて示した。

表1

成分名/溶液番号	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	比較液1	比較液2	比較液3	比較液4	比較液5
NaCl	100.3	100.3	100.3	100.3	100.3	116.2	82.3	122.2	116.2	100.3	82.3	113.5
KCl	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.1	5.08	5.1	5.1	5.1	5.1
Na ₂ HPO ₄	-	-	3.0	3.0	3.0	-	-	3.0	-	-	-	-
クエン酸ナトリウム・2H ₂ O	-	-	0.34	1.7	3.4	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸	1.0	1.0	-	-	-	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0
MgCl ₂ ・6H ₂ O	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.98	1.0	1.0	1.0	1.0
CaCl ₂ ・2H ₂ O	-	-	1.1	1.1	1.1	-	-	1.05	-	-	-	-
グリセリン酸カルシウム	1.0	5.0	-	-	-	5.0	5.0	-	5.0	5.0	5.0	5.0
NaHCO ₃	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
グルコース	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.11	5.0	5.0	5.0	10.0
D-3-HBA・Na	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	5.0	40.0	-	-	-	-	-
L-3-IIBA・Na	-	-	-	-	-	-	-	-	5.0	20.0	40.0	-
オキシグルタチオン	-	-	-	-	-	-	-	0.30	-	-	-	-

(mM)

実施例 2

実施例 1 の溶液 No. 1 ~ No. 5 を用いて製剤安定性試験を実施した。該製剤 500 mL を容積 600 mL の透明ガラス製容器に充填した後密栓し、被験液 5 本を調整した。これらは、 $40^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $75\% \pm 5\%$ に調整した
5 恒温恒湿器内にて 6 カ月間保存した。第 13 改正日本薬局方に従い、溶液の外観、不溶性異物試験、浸透圧および pH について評価した。その結果、溶液の外観、不溶性異物試験および浸透圧は、変化なかった。溶液の pH に関しても、保存開始時 pH 7.43 ± 0.02 が保存 6 カ月後 pH 7.52 ± 0.02 であり、変動幅も少なく、該製剤は室温で長期間にわたって安定に保存できることが判った。

10 実施例 3

温度的に苛酷な条件下での製剤安定性を評価するために、実施例 2 と同様にして調整した被験液を用いて溶液の外観にて評価した。これらは、 60°C の恒温器内にて 1 カ月間保存し、1 週間後および 1 カ月後の 2 点評価を行った。その結果、
15 溶液 No. 1 および No. 2 に関しては保存後 1 カ月目であっても沈殿を認めなかったが、溶液 No. 3 ~ No. 5 に関しては、保存 1 週間後で既に沈殿を認め、保存 1 カ月後では沈殿の量はより増えていた。従って、本発明溶液 No. 1 および No. 2 は苛酷条件下での安定性に優れることが判った。

実施例 4

実施例 1 記載の溶液 No. 2、No. 6、No. 7、および比較液 2 ~ 4 の被験灌
20 流液を用いて、角膜に対する保護効果を角膜内皮細胞の角膜厚調節機能に対する効果 (in vitro 実験) を用いて比較した。

成熟家兎より角膜周囲に強膜が約 5 mm 付着した状態で強角膜片を摘出し、被験灌流液中にて 36°C 条件下、6 時間培養後の角膜厚を超音波角膜厚計 (DGH-500 PACHETTE, DGH TECHNOLOGY) にて計測した。
25 各被験液にて 6 時間培養終了後の角膜厚変化量の結果を図 1 に示した。角膜厚変化量は培養後の角膜厚が培養前の角膜厚よりも減少した場合を負の値で、膨潤した場合を正の値で示した。

D 体および L 体を含む各被験液の角膜厚変化量に関し、全ての濃度において、

D-3-HBA・Naを添加した培養下での細胞ではより角膜厚が減少した状態で維持された。尚、被験液中では、20mMのD-3-HBA・Naを配合した溶液No.2が最もその効果を発現していた。

実施例5

- 5 実施例1記載の溶液No.2、No.3並びにNo.2の組成からリン酸イオンおよびグリセロリン酸イオンを除去し且つ浸透圧をNo.2、No.3の溶液と同程度に調製した比較灌流液の計3種類の被験灌流液を準備し、実施例4と同様の方法（培養時間のみ変更）にて角膜に対する保護作用の効果を、角膜内皮細胞の角膜厚調節機能に対する効果（*in vitro*実験）により比較した。結果を図
- 10 2に示した。

結果、グリセロリン酸イオンは房水の必須成分であるリン酸イオンと同様の働きをすることが判った。

実施例6

- 実施例1記載の溶液No.1、No.2およびNo.2の組成からグリセロリン酸
- 15 イオンを除去し且つ浸透圧をNo.1およびNo.2の溶液と同程度となるように調製した比較灌流液の計3種類の被験灌流液を用いて、実施例5と同様の方法にて角膜に対する保護作用の効果を、角膜内皮細胞の角膜厚調節機能に対する効果（*in vitro*実験）により比較した。結果を図3に示した。

- 結果、グリセロリン酸カルシウムが配合されなければ、角膜厚調節機能は働か
- 20 ず、さらにグリセロリン酸カルシウムは配合量が増えるほど、すなわちNo.1よりもNo.2の方がより角膜厚調節機能が有効に作用することが判った。

実施例7

- 実施例1記載の溶液No.2およびNo.2の組成から重炭酸イオンを除去し且つ浸透圧をNo.2の溶液と同程度となるように調製した比較灌流液の計2種類
- 25 の被験灌流液を用いて、実施例5と同様の方法にて角膜に対する保護作用を、角膜内皮細胞の角膜厚調節機能に対する効果（*in vitro*実験）により比較した。結果を図4に示した。

結果、重炭酸イオンを配合しなければ、角膜厚調節機能は正常には働かず、重

炭酸イオンの配合が必要であることが判った。

実施例 8

実施例 1 記載の溶液 No. 2 および比較液 5 の計 2 種類の被験灌流液を用いて、実施例 5 と同様の方法にて角膜に対する保護作用の効果を、角膜内皮細胞の角膜厚調節機能に対する効果 (in vitro 実験) により比較した。結果を図 5 に示した。

結果、エネルギー源としてグルコース単独を配合したもの (比較液 5) よりも、エネルギー源として D-3-HBA・Na およびグルコースの組合せを配合したもの (No. 2) のほうが、より有効であることが判った。

10 実施例 9

実施例 1 記載の被験灌流液 No. 2 および比較液 1 の 2 種類の被験灌流液を用いて、Dutch rabbit (雌雄、体重：1.9～2.9 kg) の前房内灌流の in vivo 実験により角膜厚に与える効果を調べた。

家兎の各個体を塩酸キシラジンおよび塩酸ケタミンにて筋肉注射による全身麻酔後、各個体の左右眼の角膜輪部に眼科用メスを用いて 3.2 mm 幅の切開を行い、針先を丸くカットした 18 G の注射針をその切開口より前房内に挿入し、2 種の被験灌流液をそれぞれ流速 10 ml/min で 120 分間灌流した。各被験液の角膜厚の変化量は、灌流前および灌流開始後 30 分毎の 120 分迄、0.4 % 塩酸オキシプロカインの点眼麻酔下、前記の超音波角膜厚計を用いて測定された。それぞれの角膜厚の経時的变化量を図 6 に示した。

その結果、本発明品である溶液 No. 2 は、市販の灌流液製剤である比較液 1 と比較した場合、特に灌流中の角膜厚の変化が有意に小さく、角膜保護効果に優れた灌流液製剤であることが判る。

実施例 10

25 実施例 1 記載の溶液 No. 2 および比較液 1 の計 2 種類の被験灌流液を用いて、家兎摘出網膜への影響を調べるために、ERG による電気生理学的検査を以下の実験法に従って行った。家兎眼球の後方部より摘出した網膜は、被験液と反応させるチャンバー内にセットし、95 % O₂ : 5 % CO₂ の割合の気体によって通

気された35℃の標準灌流液に置換し60分間培養後、次いで再度標準灌流液に置換し60分間培養したERGのa波およびb波の潜時（反応が現れるまでの時間）を10分間隔で観察した（基準時：0分）。ERGの各潜時の変動率は、被験液の置換直前の各潜時を基準とし、各測定時間の振幅変動をそれぞれ百分率換算し、a波の経時変化を図7に、b波の経時変化を図8に示した。

その結果、本発明溶液である溶液No.2は、市販の灌流液製剤である比較液1と比較して、より網膜に対する影響が少ないことが判った。

なお、ERGとは網膜機能の変化、すなわち網膜細胞数の減少の程度、言い換えればその症状の範囲、視物質や神経伝達物質の質的・量的異常の程度、網膜細胞・細胞膜電位の異常、細胞膜の変性の度合いなどの、網膜に関わる総合的な情報を獲得する上で有効な測定法の一つである（眼科学大系、第1巻、69～70頁、中山書店発行、1993年）。

以上より、本発明は、エネルギー源としてD-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物、重炭酸塩およびグリセロリン酸カルシウムを組合せることにより、生体安全性が高く且つ温度的に苛酷な条件下でも製剤的に安定な一液型の眼手術用灌流液を提供する。さらには角膜内皮細胞をはじめとする眼組織の保護効果および物理的侵襲に対する回復効果に優れた眼手術用灌流液製剤である。

請求の範囲

1. D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物、重炭酸塩並びにグリセロリン酸カルシウムを含有することを特徴とする一液型眼手術用灌流液製剤。
5
2. グルコースをさらに含有する請求項1に記載の製剤。
3. クエン酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物をさらに含有する請求項1に記載の製剤。
4. D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩がナトリウム塩、カリウム塩、バリウム塩、マグネシウム塩、リチウム塩、L-リジン塩、L-ヒスチジン塩およびL-アルギニン塩よりなる群から選ばれる請求項1に記載の製剤。
10
5. 重炭酸塩がナトリウム塩またはカリウム塩である請求項1に記載の製剤。
6. D-3-ヒドロキシ酪酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物の濃度が0.01mM以上200mM未満である請求項1に記載の製剤。
15
7. 重炭酸塩の濃度が0.1mM以上100mM未満である請求項1に記載の製剤。
8. グリセロリン酸カルシウムの濃度が0.1mM以上50mM未満である請求項1に記載の製剤。
9. グルコースの濃度が0.01mM以上50mM未満である請求項2に記載の製剤。
20
10. クエン酸およびその塩よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物の濃度が0.01mM以上50mM未満である請求項3に記載の製剤。
11. 生体成分の無機塩および等張化剤よりなる群から選ばれる少なくとも1種の化合物をさらに含有する請求項1に記載の製剤。
25
12. 請求項1、2、3および11記載の一液型眼手術用灌流液製剤を白内障手術、眼内レンズ移植手術、緑内障手術、硝子体手術および全層角膜手術に使用すること。

図 1

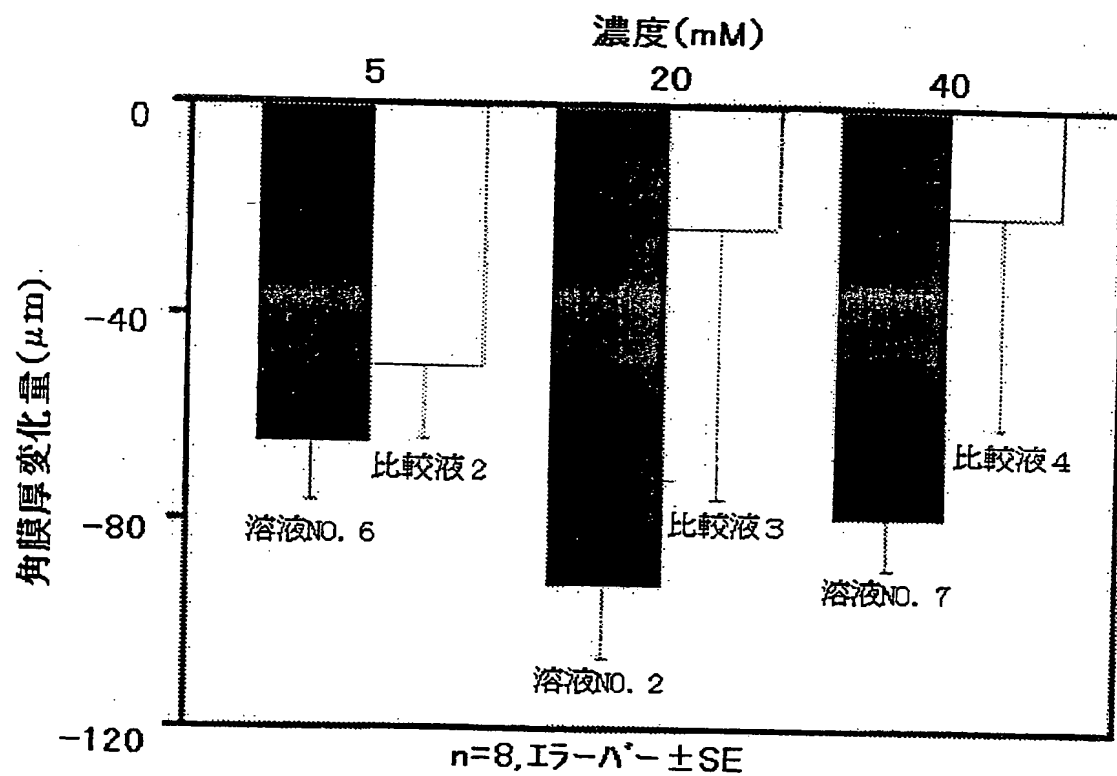


図 2

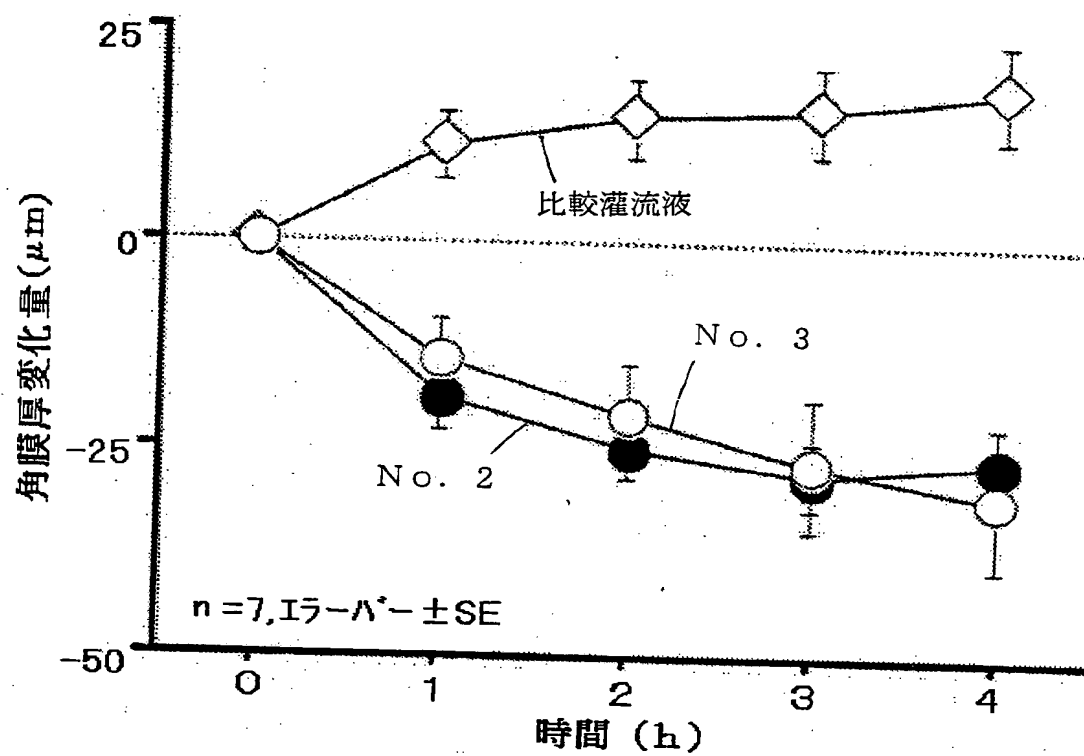


図 3

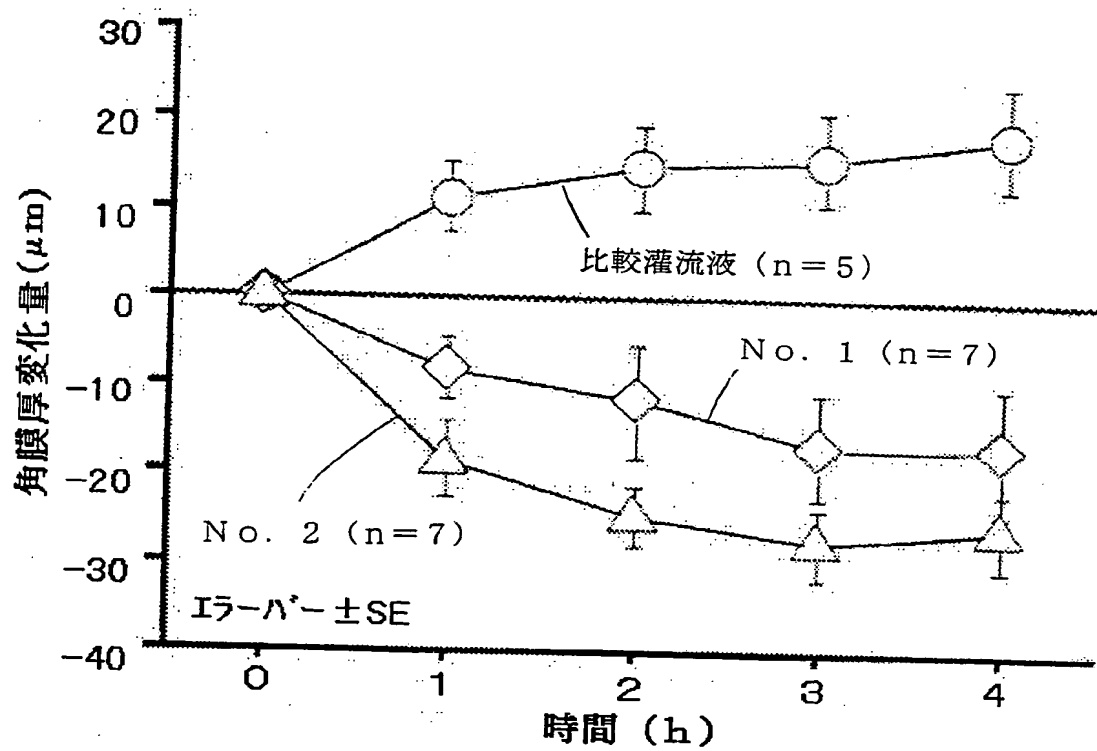


図 4

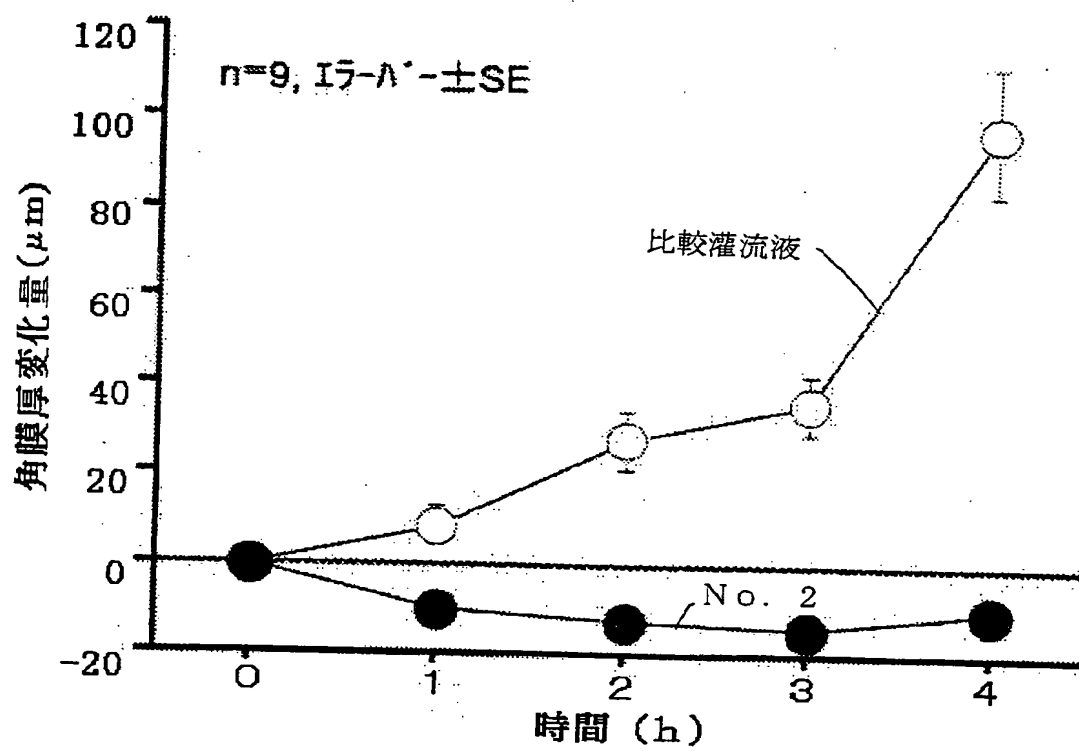


図 5

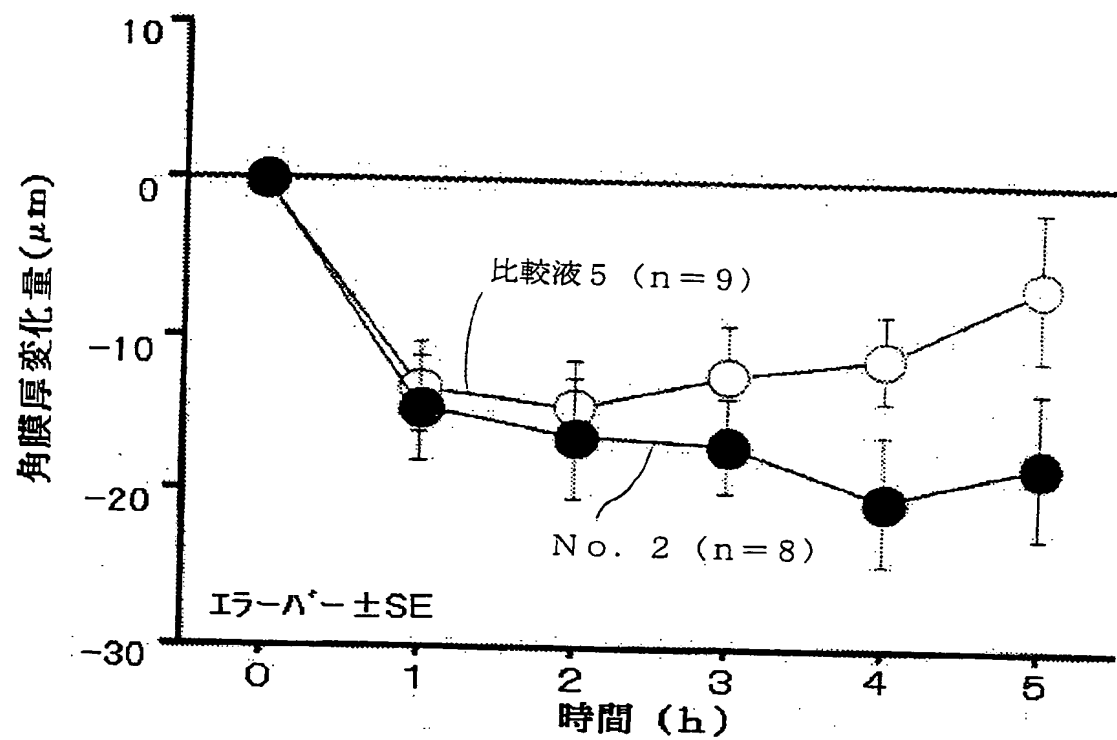


図 6

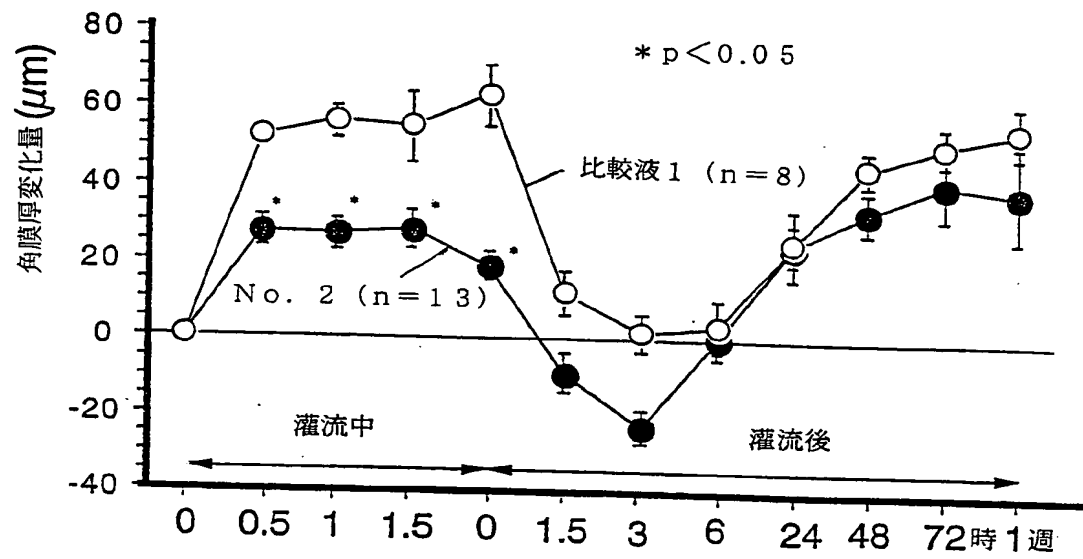


図 7

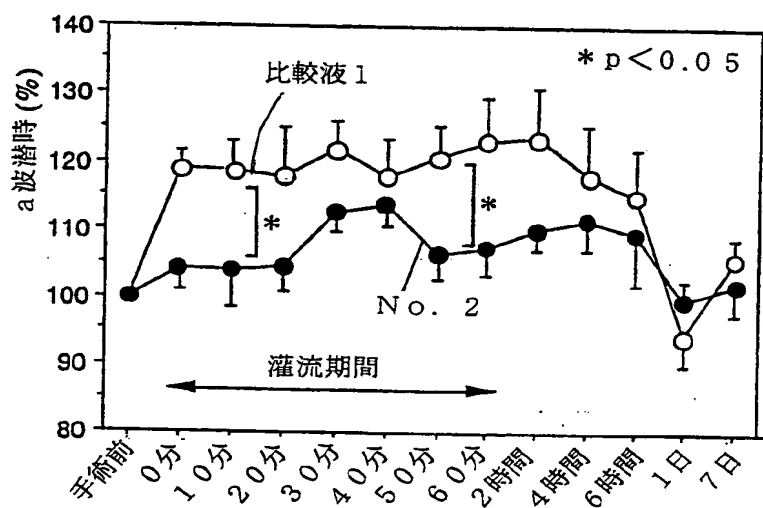
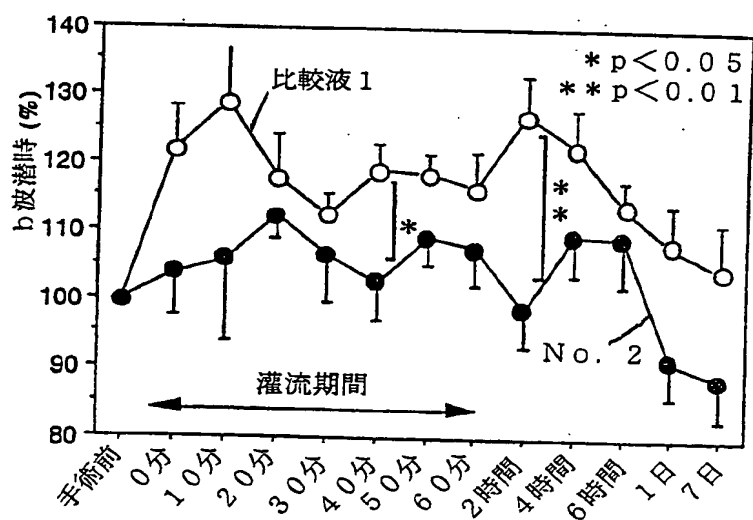


図 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00081

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K33/10, A61K9/08, A61P27/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K33/10, A61K9/08, A61P27/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY (STN) , CA (STN) , CAOLD (STN) , CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 11-005737, A (OFUTEKUSU K.K.), 12 January, 1999 (12.01.99) (Family: none)	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
31 March, 2000 (31.03.00)

Date of mailing of the international search report
11 April, 2000 (11.04.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00081

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 12 pertains utilization of the preparations as set forth in claims 1, 2, 3 and 11 in operations such as cataract operation, which involves methods for treatment of the human body by surgery. Thus, it relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K33/10, A61K9/08, A61P27/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K33/10, A61K9/08, A61P27/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY (STN), CA (STN), CAOLD (STN), CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, 11-005737, A (株式会社オプテクス) 12.1月. 1999 (12.01.99) (ファミリーなし)	1-11

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

31.03.00

国際調査報告の発送日

11.04.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中木 亜希



4P

9638

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 1 2 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求の範囲 1 2 は、請求の範囲 1、2、3 及び 1 1 に記載の製剤を、白内障手術等の手術に使用することに係るものであり、これは、人の身体の手術方法を包含するものであるから、国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。